

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 2 年 9 月 1 3 日
Date of Application:

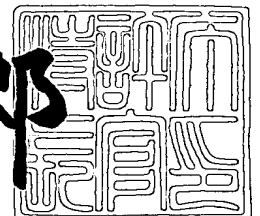
出 願 番 号 特 願 2 0 0 2 - 2 6 8 3 6 9
Application Number:
[ST. 10/C] : [J P 2 0 0 2 - 2 6 8 3 6 9]

出 願 人 大塚製薬株式会社
Applicant(s): 国立病院呉医療センター

2 0 0 3 年 7 月 9 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

太田信一郎



出証番号 出証特 2 0 0 3 - 3 0 5 4 7 8 9

【書類名】 特許願

【整理番号】 52002JP

【特記事項】 特許法第 3 0 条第 1 項の規定の適用を受けようとする特
許出願

【提出日】 平成14年 9月13日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C12N 15/00

【発明者】

 【住所又は居所】 徳島県板野郡藍住町住吉字神蔵 1 6 番地の 7

 【氏名】 木下 盛敏

【発明者】

 【住所又は居所】 広島県呉市青山町 4 番 6 号

 【氏名】 宮田 正彦

【特許出願人】

 【識別番号】 000206956

 【氏名又は名称】 大塚製薬株式会社

【特許出願人】

 【住所又は居所】 広島県呉市青山町 3 番 1 号

 【氏名又は名称】 国立病院呉医療センター

【代理人】

 【識別番号】 100065215

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 三枝 英二

 【電話番号】 06-6203-0941

【選任した代理人】

 【識別番号】 100076510

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 掛樋 悠路

【選任した代理人】

【識別番号】 100086427

【弁理士】

【氏名又は名称】 小原 健志

【選任した代理人】

【識別番号】 100090066

【弁理士】

【氏名又は名称】 中川 博司

【選任した代理人】

【識別番号】 100094101

【弁理士】

【氏名又は名称】 舘 泰光

【選任した代理人】

【識別番号】 100099988

【弁理士】

【氏名又は名称】 斎藤 健治

【選任した代理人】

【識別番号】 100105821

【弁理士】

【氏名又は名称】 藤井 淳

【選任した代理人】

【識別番号】 100099911

【弁理士】

【氏名又は名称】 関 仁士

【選任した代理人】

【識別番号】 100108084

【弁理士】

【氏名又は名称】 中野 睦子

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 001616

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9708032

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書**【発明の名称】 肝細胞癌検出法****【特許請求の範囲】**

【請求項 1】 アルドラーゼB遺伝子、カルバミルフォスフェート合成酵素 I 遺伝子、プラスミノーゲン遺伝子、EST51549、アルブミン遺伝子、チトクロームP450サブファミリー2E1遺伝子、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも 1 つの遺伝子を含む遺伝子群の被検組織における発現レベルを測定することにより、肝細胞癌を検出することを特徴とする癌細胞の検出方法。

【請求項 2】 プラスミノーゲン遺伝子、EST51549、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも 1 つの遺伝子を含む遺伝子群の被検組織における発現レベルを測定することにより、肝細胞癌を検出することを特徴とする癌細胞の検出方法。

【請求項 3】 遺伝子の発現レベルの測定を、遺伝子転写物の測定により行う請求項 1 又は 2 のいずれかに記載の検出方法。

【請求項 4】 転写物から調製されたcDNAをもとに、該遺伝子DNAの全域または一部を増幅し定量化する工程を有する請求項 3 に記載の検出方法。

【請求項 5】 遺伝子の発現レベルの測定を、インベーター法により行う請求項 1 又は 2 のいずれかに記載の検出方法。

【請求項 6】 転写物から調製された標識化cDNAに対して、固層化された当該遺伝子DNAの全域または一部とハイブリダイゼーションさせることにより発現レベルの測定がなされる請求項 1 又は 2 のいずれかに記載の検出方法。

【請求項 7】 被検組織が、慢性肝炎患者の肝組織である請求項 1 ～ 6 のいずれかに記載の検出方法。

【請求項 8】 次の工程を含む肝細胞癌の判定方法。

a) アルドラーゼB遺伝子、カルバミルフォスフェート合成酵素I遺伝子、プラスミノーゲン遺伝子、EST51549、アルブミン遺伝子、チトクロームP450サブファミリー2E1遺伝子、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも 1 つの遺伝子を含む遺伝子群の

被検組織における発現レベルを測定する工程、

b) a) で測定した発現レベルとコントロールにおける前記遺伝子の発現レベルとを比較する工程。

【請求項 9】 次の工程を含む肝細胞癌の判定方法。

a) プラスミノージェン遺伝子、EST51549、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも1つの遺伝子を含む遺伝子群の被検組織における発現レベルを測定する工程、

b) a) で測定した発現レベルとコントロールにおける前記遺伝子の発現レベルとを比較する工程。

【請求項 10】 アルドラーゼB遺伝子、カルバミルフォスフェート合成酵素I 遺伝子、プラスミノージェン遺伝子、EST51549、アルブミン遺伝子、チトクロームP450サブファミリー2E1遺伝子、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも1つの遺伝子を含む遺伝子群の被検組織における発現レベルを定期的に測定することを特徴とする肝細胞癌の早期検出方法。

【請求項 11】 プラスミノージェン遺伝子、EST51549、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも1つの遺伝子を含む遺伝子群の被検組織における発現レベルを定期的に測定することを特徴とする肝細胞癌の早期検出方法。

【請求項 12】 アルドラーゼB遺伝子、カルバミルフォスフェート合成酵素I 遺伝子、プラスミノージェン遺伝子、EST51549、アルブミン遺伝子、チトクロームP450サブファミリー2E1遺伝子、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも1つの遺伝子を含む遺伝子群を構成する遺伝子DNAの全域又はその一部を固層化してなる、遺伝子の発現レベルを測定するためのDNAチップ。

【請求項 13】 プラスミノージェン遺伝子、EST51549、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも1つの遺伝子を含む遺伝子群を構成する遺伝子DNAの全域又はその一部を固層化してなる、遺伝子の発現レベルを測定するためのDNAチップ。

【請求項 14】肝細胞癌を検出するための、請求項 12 又は 13 に記載の DNA チップ。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、慢性肝炎患者等の被検組織における遺伝子の発現レベルの測定による肝細胞癌の検出法に関する。

【0002】

【従来の技術】

現在ウイルス性肝炎の患者は世界中で5億人とも言われている。特に、南アジアにおいては、人口の24.8%がB型もしくはC型肝炎に感染しており、その5%が慢性化している。さらに、この慢性型肝炎は約20年の長期間を経て肝細胞癌に移行することが知られている。

【0003】

肝細胞癌の検出及び診断は、現在、腹部超音波検査、腹部MRI検査、腹部CT、血管造影、血清中腫瘍マーカーの生化学的検査、肝生検などが広く行われているが、遺伝子レベルでの有効な方法はまだ知られていない。

【0004】

一方、癌化は、正常細胞が外界からの種々の要因によって影響を受け、遺伝子レベルでの変化あるいは変異を生じ、これがタンパクレベルに反映し、最終的に正常細胞の営みが破綻した結果の一つであって、ヒト肝細胞癌においても遺伝子レベルでの変化又は変異について、多くの報告が見受けられる。たとえば、c-myc について、33.3%から36.4%の遺伝子発現量の増加が報告されている（たとえば非特許文献1および2参照。）。K-rasでは0%から16.7%の頻度で点突然変異が生じていることが報告されている（たとえば非特許文献3および4参照。）。P53でも23.1%から50%の頻度で点突然変異の生じることが報告されている（たとえば非特許文献5, 6, 7, 8および9参照。）。さらに、Rbおよびp53では、ヘテロ接合（heterozygosity）の消失が、それぞれ42.9-43.1%及び50-52.9%で生じることが観察されている（たとえば非特許文献7, 8, 10および11

- 参照。)。しかし、これらの遺伝子の変化の数値は、前癌性の肝炎が肝細胞癌に移行するメカニズムを解明するには十分なものではない。

【 0 0 0 5 】

また、発現量の低下する遺伝子として、アルドラーゼB（たとえば非特許文献 1 2 参照。）、アルブミン（たとえば非特許文献 1 3 参照。）に関する報告がある。また、ラット肝発ガンモデルにおいて、カルバミルフォスフェート合成酵素 1 の発現量が癌の悪性度に比例して低下するという報告もある（たとえば非特許文献 1 4 参照。）。

【 0 0 0 6 】

しかし、肝細胞癌を検出するための有効な方法は、未だ確立されていなかった。

【 0 0 0 7 】**【非特許文献 1】**

オンコロジー (Oncology), 1999年, 57巻, p.157-163

【 0 0 0 8 】**【非特許文献 2】**

ジャーナル オブ フォルモス メヂカル アソシエーション (Journal of Formos Medical Association), 1993年, 92巻, p.866-870

【 0 0 0 9 】**【非特許文献 3】**

アンテイキャンサー リサーチ (Anticancer Research), 1995年, 15巻, p.859-861

【 0 0 1 0 】**【非特許文献 4】**

オンコジーン (Oncogene), 1991年, 6巻, p.857-862

【 0 0 1 1 】**【非特許文献 5】**

キャンサー (Cancer), 1994年, 74巻, p.30-37

【 0 0 1 2 】

【非特許文献 6】

ギヤトロエンテロロジー (Gatroenterlogy), 1999年, 117巻, p.154-160

【0 0 1 3】

【非特許文献 7】

ジャーナル オブ ヘパトロロジー (Journal of Hepatology), 1993年, 19巻, p.3
12-315

【0 0 1 4】

【非特許文献 8】

ブリテイッシュ ジャーナル オブ キャンサー (British Journal of Cancer),
1999年, 80巻, p.59-66

【0 0 1 5】

【非特許文献 9】

ジャーナル オブ ギヤストロエンテロロジカル ヘパトロロジー (Journal of Gastr
oenterological Hepatology), 1995, 年10巻, p.179-185

【0 0 1 6】

【非特許文献 1 0】

キャンサー リサーチ (Cancer Research), 1994年, 54巻, p.4177-4182

【0 0 1 7】

【非特許文献 1 1】

ヨーロッパン ジャーナル オブ キャンサー (European Jouranal of Cancer),
1999年, 35巻, p.1730-1734

【0 0 1 8】

【非特許文献 1 2】

ジャーナル オブ クリニカル ラボラトリ アナリシス (Journal of Clinical la
boratory analysis), 1994年, 8巻, p.144-148

【0 0 1 9】

【非特許文献 1 3】

ジャーナル オブ ヒストケミストリ アンド サイトケミストリ (Journal of His
tochemistry and Cytochemistry), 1997年, 45巻, p.79-87

【0020】**【非特許文献14】**

サイエンチア シニカ シリーズ ビ (Scientia Sinica Series B), 1988年, 31巻, p.197-203

【0021】**【発明が解決しようとする課題】**

本発明の主な目的は、肝細胞癌の有効な検出方法、より具体的には、遺伝子の発現レベルを測定することによる肝細胞癌の検出方法又は診断方法を提供することにある。さらに、肝細胞癌を検出するための有効な手段及び材料を提供することにある。

【0022】**【課題を解決するための手段】**

本発明者らは、慢性肝炎患者の肝臓における癌部位と非癌部位における遺伝子の発現レベルを網羅的に比較検討した。その結果、癌化により発現量の著しく低下する遺伝子が存在することを見出し、更に検討を重ねて、本発明を完成するに至った。

【0023】

即ち、本発明は、以下の事項に係る。

【0024】

項1：アルドラーゼB遺伝子、カルバミルフォスフェート合成酵素I遺伝子、プラスミノージェン遺伝子、EST51549、アルブミン遺伝子、チトクロームP450サブファミリー2E1遺伝子、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも1つの遺伝子を含む遺伝子群の被検組織における発現レベルを測定することにより、肝細胞癌を検出することを特徴とする癌細胞の検出方法。

【0025】

項2：プラスミノージェン遺伝子、EST51549、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも1つの遺伝子を含む遺伝子群の被検組織における発現レベルを測定することにより

、肝細胞癌を検出することを特徴とする癌細胞の検出方法。

【0026】

項3：遺伝子の発現レベルの測定を、遺伝子転写物の測定により行う項1又は2のいずれかに記載の検出方法。

【0027】

項4：転写物から調製されたcDNAをもとに、該遺伝子DNAの全域または一部を増幅し定量化する工程を有する項3に記載の検出方法。

【0028】

項5：遺伝子の発現レベルの測定を、インベーター法により行う項1又は2のいずれかに記載の検出方法。

【0029】

項6：転写物から調製された標識化cDNAに対して、固層化された当該遺伝子DNAの全域または一部とハイブリダイゼーションさせることにより発現レベルの測定がなされる項1又は2のいずれかに記載の検出方法。

【0030】

項7：被検組織が、慢性肝炎患者の肝組織である項1～6のいずれかに記載の検出方法。

【0031】

項8：次の工程を含む肝細胞癌の判定方法。

【0032】

a) アルドラーゼB遺伝子、カルバミルフォスフェート合成酵素I遺伝子、プラスミノーゲン遺伝子、EST51549、アルブミン遺伝子、チトクロームP450サブファミリー2E1遺伝子、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも1つの遺伝子を含む遺伝子群の被検組織における発現レベルを測定する工程、

b) a) で測定した発現レベルとコントロールにおける前記遺伝子の発現レベルとを比較する工程。

【0033】

項9：次の工程を含む肝細胞癌の判定方法。

【0034】

a) プラスミノージェン遺伝子、EST51549、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも1つの遺伝子を含む遺伝子群の被検組織における発現レベルを測定する工程、

b) a) で測定した発現レベルとコントロールにおける前記遺伝子の発現レベルとを比較する工程。

【0035】

項10：アルドラーゼB遺伝子、カルバミルフォスフェート合成酵素I遺伝子、プラスミノージェン遺伝子、EST51549、アルブミン遺伝子、チトクロームP450サブファミリー2E1遺伝子、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも1つの遺伝子を含む遺伝子群の被検組織における発現レベルを定期的に測定することを特徴とする肝細胞癌の早期検出方法。

【0036】

項11：プラスミノージェン遺伝子、EST51549、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも1つの遺伝子を含む遺伝子群の被検組織における発現レベルを定期的に測定することを特徴とする肝細胞癌の早期検出方法。

【0037】

項12：アルドラーゼB遺伝子、カルバミルフォスフェート合成酵素I遺伝子、プラスミノージェン遺伝子、EST51549、アルブミン遺伝子、チトクロームP450サブファミリー2E1遺伝子、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも1つの遺伝子を含む遺伝子群を構成する遺伝子DNAの全域又はその一部を固層化してなる、遺伝子の発現レベルを測定するためのDNAチップ。

【0038】

項13：プラスミノージェン遺伝子、EST51549、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも1つの遺伝子を含む遺伝子群を構成する遺伝子DNAの全域又はその一部を固層化

してなる、遺伝子の発現レベルを測定するためのDNAチップ。

【0039】

項14：肝細胞癌を検出するための、項12又は13に記載のDNAチップ。

【0040】

【発明の実施の形態】

以下、本発明を詳細に説明する。

【0041】

なお、本明細書におけるアミノ酸、蛋白質、塩基配列、核酸等の略号による表示は、IUPAC、IUBの規定、「塩基配列又はアミノ酸配列を含む明細書の作成のためのガイドライン」（特許庁編）及び当該分野における慣用記号に従うものとする。

【0042】

癌化により発現レベルが低下している遺伝子

本発明者が慢性肝炎患者の肝臓における癌部位と非癌部位における遺伝子の発現レベルを網羅的に比較検討した。

【0043】

具体的には、上記両組織から調製したmRNAをもとに、蛍光標識化したcDNAライブラリーを合成し、これを電気泳動にて分離した。次いで、両組織における蛍光強度の差異を調べ、癌部位における顕著な発現の低下が認められるものを、候補遺伝子としてピックアップした(図1)。次いで、該候補遺伝子をクローニングし、それらの塩基配列を決定した。更に、該候補遺伝子について、再度癌部位および非癌部位から調製したmRNA溶液を用いて、リアルタイムRT-PCRの手法で定量化を行い、実際に、肝細胞癌において低発現であることを確認した。

【0044】

この結果、8つの遺伝子が、肝細胞癌において発現レベルが低下している遺伝子であることが明らかになった。

【0045】

この8つの遺伝子について、GenBank遺伝子データベースを用いて解析した結果、配列表の配列番号1～8に示す遺伝子であることがわかった。

【0046】

このうち、配列番号1で表される塩基配列を有する遺伝子は、アルドラーゼBをコードする遺伝子である。

【0047】

配列番号2で表される塩基配列を有する遺伝子は、カルバミルフォスフェート合成酵素Iをコードする遺伝子である。

【0048】

配列番号3で表される塩基配列を有する遺伝子は、プラスミノーゲンをコードする遺伝子である。

【0049】

配列番号4で表される塩基配列を有する遺伝子は、EST51549 (GenBank Acc.No. AA345522) であって、その機能は未だ明らかにされていない。

【0050】

配列番号5で表される塩基配列を有する遺伝子は、アルブミンをコードする遺伝子である。

【0051】

配列番号6で表される塩基配列を有する遺伝子は、チトクロームP450サブファミリー2E1をコードする遺伝子である。

【0052】

配列番号7で表される塩基配列を有する遺伝子は、レチノール結合タンパク4をコードする遺伝子である。

【0053】

配列番号8で表される塩基配列を有する遺伝子は、オーガニックアニオントランスポーターCをコードする遺伝子である。

【0054】

該8つの遺伝子は、表1に示されるように、肝細胞癌における発現レベルが著しく低下していた。

【0055】

検出方法

本発明の検出方法は、慢性肝炎患者等の被検組織において上記8つの遺伝子の発現レベルを測定することを特徴とする。

【0056】

上述したように、該8つの遺伝子は、肝細胞癌における発現レベルが顕著に低下しており、これら遺伝子の発現レベルの変化を測定することによって、肝細胞癌等の癌細胞を検出することが可能となる。

【0057】

具体的には、アルドラーゼB遺伝子、カルバミルフォスフェート合成酵素I遺伝子、プラスミノージェン遺伝子、EST51549、アルブミン遺伝子、チトクロームP450サブファミリー2E1遺伝子、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも1つの遺伝子を含む遺伝子群の被検組織における発現レベルを測定することにより、肝細胞癌を検出することができる。

【0058】

本発明の検出法は、8つの遺伝子のうちいずれか一つを含む遺伝子群の発現レベルの測定によって行ってもよく、或いは、8つの遺伝子のうちの数個の組合せを含む遺伝子群、又は8個全ての遺伝子を含む遺伝子群の発現レベルの測定によって、行ってもよい。

【0059】

8つのうち数個の組合せを含む遺伝子群を用いた検出法としては、プラスミノージェン遺伝子、EST51549、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも1つの遺伝子を含む遺伝子群の被検組織における発現レベルを測定することによる肝細胞癌の検出方法等が挙げられる。

【0060】

遺伝子の発現レベルを測定する方法は、従来公知の方法を適宜用いることができ、特に制限されることはない。

【0061】

具体的には、被検組織に存在する目的遺伝子の転写物を定量する方法、目的遺

伝子の翻訳物を定量する方法などを挙げることができる。

【 0 0 6 2 】

遺伝子の転写物を定量する方法とは、被検組織中からmRNAを抽出し、該遺伝子由来RNA量を測定する方法である。

【 0 0 6 3 】

被検組織からのRNA抽出および精製は、常法に従って、行うことができるが、具体的には、以下のように、行うことができる。被検組織にフェノールとチオシアン酸グアニジンを含む溶液を添加し、溶解またはホモジナイズした後、クロロホルムを加え、遠心分離操作により上層の水溶液層と下層の有機層に分離する。RNAは、水層に回収されるため、上層を分取することによりRNAを回収する。次いで、回収液にたとえばイソプロパノールを添加し、RNAを沈殿せしめ洗浄することにより高純度のRNAを得る。抽出されたRNAは、トータルRNA (totalRNA) として用いてもよく、もしくは精製mRNAとして用いてもよい。

【 0 0 6 4 】

該RNA量を測定する方法としては、RT-PCR、リアルタイムRT-PCR、インバーダー法、DNAアレイ、ノーザンブロット解析又はその他の各種方法等を挙げることができる。

【 0 0 6 5 】

RT-PCRおよびリアルタイムRT-PCRは、mRNAから相補的DNA (cDNA) を合成し、適当なプライマーおよびDNAポリメラーゼ (一般的には耐熱性DNAポリメラーゼ) を用いて目的領域のDNAを合成するものである。通常、DNAの変性、アニール、伸長反応の工程を繰り返すことによって、DNAを増幅させることにより、RNA量を測定する。

【 0 0 6 6 】

RT-PCRおよびリアルタイムRT-PCRにおいて使用されるプライマーは、目的遺伝子の特異的に増幅できる領域であれば、塩基配列中のどの領域を使用してもよく、また塩基配列の長さにも特に制限はない。通常は、20-30ヌクレオチドのものを使用する。

【 0 0 6 7 】

また、リアルタイムRT-PCRにおいて使用されるDNA鎖と親和性を有する蛍光分子としては、CYBRグリーン (CYBR Green)、ピコグリーン (PicoGreen)、エチジウムブロマイドなどを例示することができ、好適にはCYBRグリーンが用いられる。

【0068】

RT-PCRおよびリアルタイムRT-PCRは、DNAを数10万倍に増幅でき、高感度であること、被検試料が微量ですむこと等の点から、好適に用いられる。

【0069】

また、インベーター法とは、RNAまたはDNA上において、これと相補的なプローブ (インベータープローブ) および非相補的な部分を5' 側に持つ相補的プローブ (シグナルプローブ) を結合させることにより、この立体構造を認識する酵素クレアベーゼ (Cleavase) にてシグナルプローブを切断せしめる工程、および切断されたシグナルプローブのいずれかの断片を検出することにより遺伝子発現レベルを測定する工程からなる方法である。

【0070】

インベータープローブとしては、目的転写物に対して相補的なものを用いればよく、特に塩基配列の長さに制限はない。また、シグナルプローブについても、インベータープローブと転写物上で3重鎖構造を形成する塩基配列、具体的には5' 側に非相補部位および3' 側に相補部位を持ちクレアベーゼが立体構造を認識し切断できるよう設計されたプローブであれば、塩基配列の長さ等は特に制限されない。さらに、切断されたシグナルプローブ断片の測定法としては、例えばシグナルプローブ断片が転写物の非相補部位であれば、該断片と蛍光物質標識プローブによりクレアベーゼで切断せしめることにより得られた断片の蛍光シグナルを測定することにより転写物が定量化できる。この場合の蛍光物質標識プローブとしては、シグナルプローブ断片と相補的塩基配列を一部にもち、該断片がハイブリダイゼーションした時、上述と同様クレアベーゼ認識立体構造を形成するように設計されたDNAプローブであって、切断遊離部分に発光物質が、また非切断部分に消光物質が標識化されており、未切断状態において発光シグナルを発しない状態のものであればよい。発光物質は、通常蛍光物質又はりん光物質等が好適に

使用され、消光物質はCy3等が好適に使用される。シグナルプローブ断片が転写物の相補部位である場合は、例えば該断片に対して相補部分を含む固層化オリゴヌクレオチドに該遊離断片を捕獲させフルオレセインを取込ませ蛍光抗体法を用いて検出する方法等を例示することができ、市販の測定キットなどを用いて行うことができる。

【0071】

インベーター法は、プローブ自体を標識化する必要がないという点、および増幅操作を要しないという点から、特に好適に用いられる。

【0072】

一方、遺伝子の翻訳物を定量する方法とは、目的遺伝子がコードするタンパク質を定量するものであって、該タンパクを特異的に認識する抗体を用いた免疫学的測定法、例えばウエスタンブロット解析、ラジオイムノアッセイ、ELISA法およびその他各種方法を用いてタンパク質量を定量することにより、実施することができる。

【0073】

上述のような転写物および翻訳物の測定値は、目的遺伝子の発現レベルを反映するものである。従って、該測定法を用いて、遺伝子発現レベルの低下した部位を調べることにより、肝細胞癌の検出を行うことができる。

【0074】

判定方法

上述した8つの遺伝子の発現レベルを測定することによって、肝細胞癌であるかの判定を行うこともできる。

【0075】

具体的には、次のように行うことができる。

【0076】

まず、アルドラーゼB遺伝子、カルバミルフォスフェート合成酵素I遺伝子、プラスミノーゲン遺伝子、EST51549、アルブミン遺伝子、チトクロームp450サブファミリー2E1遺伝子、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも1つの遺伝子を含む遺伝子

群の被検組織における発現レベルを測定する。

【0077】

次に被検組織における該遺伝子の発現レベルと、コントロールにおける前記遺伝子の発現レベルとを比較し、コントロールに比べて発現レベルが低下している場合に、被検組織中に肝細胞癌等の癌細胞の存在する可能性が高いと判定することができる。

【0078】

本発明の判定方法は、8つの遺伝子のうちいずれか一つを含む遺伝子群の発現レベルの測定によって行ってもよく、或いは、8つの遺伝子のうちの数個の組合せを含む遺伝子群、又は8個全ての遺伝子を含む遺伝子群の発現レベルの測定によって、行ってもよい。

【0079】

8つのうち数個の組合せを含む遺伝子群を用いた判定方法としては、例えば、
a) プラスミノージェン遺伝子、EST51549、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも1つの遺伝子を含む遺伝子群の被検組織における発現レベルを測定する工程、b) a) で測定した発現レベルとコントロールにおける前記遺伝子の発現レベルとを比較する工程を有する肝細胞癌の判定方法等が挙げられる。

【0080】

コントロールは、判定の目的や手段に応じて適宜設定することができるが、例えば、健常者組織或いは慢性肝炎患者における肝組織の非癌部位又は末梢血単核球等を用いることができる。

【0081】

該判定方法は、肝炎患者の診断、治療などに有用に適用することができる。

【0082】

早期検出法

上述の8つの遺伝子の発現レベルの変化を調べることによって、肝細胞癌又は肝細胞癌に移行する可能性の高い部位の早期検出も行うことができる。

【0083】

具体的には、以下のように行うことができる。

【0084】

アルドラーゼB遺伝子、カルバミルフォスフェート合成酵素 I 遺伝子、プラスミノーゲン遺伝子、EST51549、アルブミン遺伝子、チトクロームp450サブファミリー2E1遺伝子、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも1つの遺伝子を含む遺伝子群の被検組織における発現レベルを定期的に測定し、該定期的な測定の結果、遺伝子の発現低下が見られる場合に、該被検部位を、肝細胞癌或いは肝細胞癌に移行する可能性の高い部位として検出することができる。

【0085】

本発明の早期検出法は、8つの遺伝子のうちいずれか一つを含む遺伝子群の発現レベルの測定によって行ってもよく、或いは、8つの遺伝子のうちの数個の組合せを含む遺伝子群、又は8個全ての遺伝子を含む遺伝子群の発現レベルの測定によって、行ってもよい。

【0086】

8つのうち数個の組合せを含む遺伝子群を用いた早期検出法としては、例えば、プラスミノーゲン遺伝子、EST51549、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも1つの遺伝子を含む遺伝子群の被検組織における発現レベルを定期的に測定する方法等が挙げられる。

【0087】

定期的に行う間隔は、特に制限されるものではないが、例えば、半年もしくは1年の間隔で行うことができ、患者や被検者の状態によって適宜設定することができる。

【0088】

上記検出方法は、肝細胞癌の予防や治療、肝炎患者の予後の解析等に利用することができる。

【0089】

DNAチップ

上記検出方法並びに判定方法は、8つの遺伝子を含む遺伝子群を固層化したDNAチップを用いることによって、より効率よく行うことができる。

【0090】

遺伝子群を基板に固層化したものには、一般的にDNAアレイという名称もあり、これはさらにDNAマイクロアレイおよびDNAマクロアレイに分類されるが、本発明におけるDNAチップには、該DNAアレイも包含される。

【0091】

本発明のDNAチップは、目的遺伝子DNAの全域又はその一部を合成し、該DNAを支持体に固層化することによって、製造することができる。

【0092】

DNAチップにおける支持体（または基盤）としては、DNAを固層化できるものであれば特に制限はなく、シリコンチップ、スライドガラスおよびナイロン膜などを例示することができる。また、固層化においては、一般に用いられる方法であれば特に制限はなく、好適には、スポッターまたはアレイヤーなどを用いてDNAをスポットする方法、または支持体上で順次ヌクレオチド合成を行う方法を例示することができる。

【0093】

固層化する遺伝子のDNAとしては、上記8つの遺伝子転写物より調製された標識化cDNAと特異的にハイブリダイゼーションするものであれば、領域および塩基配列の長さは特に制限されない。PCR産物、合成オリゴヌクレオチド或いはその部分断片なども好適に用いることができる。具体的には、アルドラーゼB遺伝子、カルバミルフォスフェート合成酵素 I 遺伝子、プラスミノーゲン遺伝子、EST51549、アルブミン遺伝子、チトクロームP450サブファミリー2E1遺伝子、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも1つの遺伝子を含む遺伝子群を構成する遺伝子DNAの全域又はその一部を上述したような方法によって固層化することによって、製造することができる。

【0094】

本発明のDNAチップにおいては、8つの遺伝子のうちのいずれか1つを含む遺伝

子群を固層化して用いてよく、また、8つの遺伝子のうち数個の組合せを含む遺伝子群、或いは8個全てを含む遺伝子群を固層化して用いてもよい。

【0095】

8つのうち数個の組合せを含む遺伝子群を固層化したDNAチップとしては、例えば、プラスミノーゲン遺伝子、EST51549、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子から選ばれる少なくとも1つの遺伝子を含む遺伝子群を構成する遺伝子DNAの全域又はその一部を固層化してなる、遺伝子の発現レベルを測定するためのDNAチップ等が挙げられる。

【0096】

8つの遺伝子は、肝細胞癌における発現レベルの低下が見られるものであることから、本発明のDNAチップは、特に肝細胞癌検出用または肝細胞癌判定用として、特に好適に用いることができる。

【0097】

本発明における検出法、判定方法およびDNAチップ製造において用いられる種々の操作、例えばDNAにおける化学合成、切断、削除、結合あるいは付加、および転写物にあっては、cDNA合成に用いる酵素、あるいは単離、精製、または増幅、複製などは、本願出願前公知の情報に従って行うことができる。また、得られる塩基配列決定あるいは配列確認は、例えばジデオキシ法やマキシムギルバート法に従って行うことができる。

【0098】

【実施例】

以下、実施例を用いて、本発明をさらに詳しく説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されることはない。

【0099】

1. 肝細胞癌低発現遺伝子の決定

試料として、ウイルス性慢性肝炎患者の肝臓組織における肝細胞癌病変部の細胞（B型2、C型2）および、同一肝臓組織における非癌部位の細胞を用いた。まず、肝炎患者から採取した癌組織および非癌化組織からトータルRNAを抽出した。次いで、トータルRNAの1 μ gに、3'側部分ROX蛍光標識化オリゴ-dT（oligo-dT；G

T15MG, GT15MA, GT15MT, GT15MC:MはG, A, C の混合/グライナーラボルテクニク ジャパン /日本、ジエチルピロカルボネート処理水11ul中に50pmol含む。)を加え、70℃で10分間処理を行い、さらに以下の組成からなる溶液Aを加え、最終容量20ulとした。

(溶液Aの組成)

5Xファーストストランドバッファー (first strand buffer) (0.25M tris-HCl, pH7.5; 0.375 mol/L KCl; 0.05 mol/Lジチオトレイトール (dithiothreitol) および0.015 mol/L)4 ul、0.1 mol/Lジチオトレイトール 2 ul、2.5 mmol/L デオキシヌクレオチドトリフォスフェート (deoxynucleotide triphosphates(dNTPs)) 1ul、リボヌクレアーゼ インヒビター (40ユニット; 和光純薬工業株式会社 (Wako Pure Chemical Industries, Japan)) 1ulおよびスーパースクリプトII リバーストランスクリプターゼ (superscript II reverse transcriptase) (200 ユニット; BRL, USA) 1ul。

【0100】

上記RNA溶液を、42℃で一時間反応させ、cDNAを合成した後、ジエチルピロカルボネート処理水80ulを添加し、5倍に希釈した。cDNAはPCRにより増幅した。添加試薬および反応条件を以下に示す。

【0101】

添加試薬: 反応液2ul、10xPCRバッファー(100mmol/L Tris-HCl、15 mmol/L MgCl₂、500 mmol/L および1mg/ml geratin, pH8.5) 2ul、2.5 mmol/L dNTPs 1.6 ul、Taq DNAポリメラーゼ (polymerase) (5 ユニット/ul; Roche Molecular Systems, NJ)0.2ul、5 pmol 3'側ROX蛍光標識化オリゴ-d Tプライマーおよび10 pmol 5'側ROX蛍光標識化オリゴ-d Tプライマー。

【0102】

反応条件: 1サイクル 95℃/3分間、40℃/5分間、72℃/5分間、
2-40サイクル 95℃/30秒間、40℃/2分間、72℃/5分間。

【0103】

合成終了後、反応液は、7.5M 尿素を含む6%ポリアクリルアミドゲル電気泳動にかけ、泳動ゲルを行い、FM BIO IIイメージング アナライザー (宝酒造株式会

社)) 上にて、解析したところ、非癌組織と比較して癌組織における蛍光強度に差異があり、癌組織において発現レベルが低下していると考えられる遺伝子(矢印)が種々確認された(図1)。該蛍光強度に差異のみられるバンド部分を切断し、次いで、この切断フラグメントをTE バッファー100ul中で一時間浸透することにより、DNAの抽出を行った。その後、該抽出液をテンプレートとして、PCRにより増幅を行った。反応条件は上記PCRと同様とした。

【0104】

2回目のPCR産物に関しては、3%アガロースゲル電気泳動後、バンド部分を切断し、GFX PCR DNAおよびGel Band Purification Kit(Amersham Pharmacia Biotech, NJ)を用いて回収した。増幅DNAsは、TAクローニングベクターpCRII(Invitrogen Japan, Japan)を用いて、クローニングを行った。そして、両DNA鎖はABI 377(Applied Biosystems, USA)を用いて塩基配列を決定した。

【0105】

以上の工程より、肝細胞癌組織において顕著に発現量の低下している8つの遺伝子を見出した。該遺伝子の塩基配列をGenBankで解析した結果、該遺伝子が、配列番号1~8で表される塩基配列を有する遺伝子、具体的には、アルドラーゼB遺伝子、カルバミルフォスフェート合成酵素I遺伝子、プラスミノーゲン遺伝子、EST51549、アルブミン遺伝子、チトクロームp450サブファミリー2E1遺伝子、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子であることがわかった。

【0106】

2. 肝細胞癌低発現遺伝子の癌細胞における発現量の測定

慢性肝炎患者由来肝細胞癌組織(20検体)から抽出し、調製されたトータルRNAをもとに、リアルタイムRT-PCRを行った。

【0107】

即ち、トータルRNA溶液に対して、10X反応バッファー(Taq polymerase, dNTP, MgCl₂およびCYBRグリーンフルオロセセント (Green fluorescent (Roche Diagnostics)))を2 ul、テンプレートcDNAを2ulおよびオリゴヌクレオチドプライマーを含む溶液20ulを用いて増幅反応を行った。

【 0 1 0 8 】

反応条件は、95℃/10秒間、65℃/10秒間、72℃/30秒間を40サイクルとした。PCR増幅装置は、ライトサイクラー（Light Cyclor ; Roche Diagnostics, Germany）を使用した。

【 0 1 0 9 】

測定された遺伝子の発現レベルを、同一慢性肝炎患者の非癌組織部分の細胞における同じ遺伝子の発現レベルと比較し、その結果を表 1 に示した。

【 0 1 1 0 】

【表 1】

遺伝子	GenBank ACC. No.	発現レベルが50%以上低下した肝細胞癌患者			
		HBV(-), HCV(-) (n=2)	HBV(+), HCV(-) (n=3)	HBV(-), HCV(+) (n=15)	total (n=20)
アルドラーゼB	X02747	2/2 (100%)	2/3 (66.7%)	14/15 (93.3%)	18/20 (90.0%)
カルバミルフォスフェート合成酵素I	D90282	2/2 (100%)	2/3 (66.7%)	11/15 (73.3%)	15/20 (75.0%)
プラスミノーゲン	X05199	2/2 (100%)	2/3 (66.7%)	11/15 (73.3%)	15/20 (75.0%)
EST51549	AA345522	2/2 (100%)	2/3 (66.7%)	11/15 (73.3%)	15/20 (75.0%)
アルブミン	V00495	2/2 (100%)	1/3 (33.3%)	12/15 (80.0%)	15/20 (75.0%)
チトクローム P450 サブファミリー 2E1	J02843	2/2 (100%)	1/3 (33.3%)	10/15 (66.7%)	13/20 (65.0%)
レチノール結合タンパク4	X00129	2/2 (100%)	1/3 (33.3%)	9/15 (60.0%)	12/20 (60.0%)
オーガニックアニオントランスポーター C	AB026257	2/2 (100%)	1/3 (33.3%)	8/15 (53.3%)	11/20 (55.0%)

【0111】

表1において、HBVはB型肝炎ウイルスを、HCVはC型肝炎ウイルスを示す。

【0112】

また、(+) は、感染していることを、(-) は非感染であることを示す。

【0113】

表1における数値は、分子が、50%以上発現レベル低下した患者数を、分母が全被検患者数を示す。また、() 内の数値は、50%以上発現レベルの低下した患者の全被検患者に対する割合を示す。

【0114】

表1の結果に示されるように、慢性肝炎の種類に関係なく、肝細胞癌では8遺伝子の発現レベルが50%以上という高率において低下していることが明らかになった。

【0115】**【発明の効果】**

本発明に示されるように、肝細胞癌においては、アルドラーゼB遺伝子、カルバミルフォスフェート合成酵素I遺伝子、プラスミノーゲン遺伝子、EST51549、アルブミン遺伝子、チトクロームP450サブファミリー2E1遺伝子、レチノール結合タンパク4遺伝子又はオーガニックアニオントランスポーターC遺伝子の発現レベルが低下しており、該遺伝子の発現レベルを測定することにより、肝細胞癌の検出を適切に行うことが可能となる。また、該遺伝子のDNAまたはその一部を固層化することにより、同検出法の有用なツールが提供される。

【0116】

また、該遺伝子の発現レベルを測定することによって、肝細胞癌の判定や早期検出を適切に行うことができ、肝細胞癌の予防、診断又は治療、並びに慢性肝炎の予後の解析などに応用することができる。

【0117】**【配列表】**

SEQUENCE LISTING

<110> Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.

<120> Underexpressed gene in HCC

<130> 52002JP

<140>

<141>

<160> 8

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 1652

<212> DNA

<213> human

<400> 1

aaaaacatga tgagaagtct ataaaaattg tgtgctacca aagatctgtc ttatttggca 60
gctgctgcct cacccacagc ttttgatata taggaggact cttctctccc aaactacctg 120
tcaccatggc ccaccgattt ccagccctca cccaggagca gaagaaggag ctctcagaaa 180
ttgcccagag cattgttgcc aatggaaagg ggatcctggc tgcagatgaa tctgtaggta 240
ccatggggaa cgcctgcag aggatcaagg tggaaaacac tgaagagaac cgccggcagt 300
tccgagaaat cctcttctct gtggacagtt ccatcaacca gagcatcggg ggtgtgatcc 360
ttttccacga gaccctctac cagaaggaca gccagggaag gctgttcaga aacatcctca 420
aggaaaaggg gatcgtggtg ggaatcaagt tagaccaagg aggtgctcct cttgcaggaa 480
caaacaaaga aaccaccatt caagggcttg atggcctctc agagcgctgt gctcagtaca 540
agaaagatgg tgttgacttt gggaagtggc gtgctgtgct gaggattgcc gaccagtgtc 600
catccagcct cgctatccag gaaaacgcca acgccctggc tcgctacgcc agcatctgtc 660

agcagaatgg actggtacct attgttgaac cagaggtaat tcctgatgga gaccatgacc 720
tggaacactg ccagtatggt actgagaagg tcctggctgc tgtctacaag gccctgaatg 780
accatcatgt ttacctggag ggcaccctgc taaagcccaa catggtgact gctggacatg 840
cctgcaccaa gaagtatact ccagaacaag tagctatggc caccgtaaca gctctccacc 900
gtactgttcc tgcagctggt cctggcatct gctttttgtc tggtagcatg agtgaagagg 960
atgccactct caacctcaat gctatcaacc tttgccctct accaaagccc tggaaactaa 1020
gtttctctta tggacgggcc ctgcaggcca gtgactggc tgcctggggt ggcaaggctg 1080
caaacaagga ggcaaccag gaggctttta tgaagcgggc catggctaac tgccaggcgg 1140
ccaaaggaca gtatgttcac acgggttctt ctggggctgc ttccaccag tcgctcttca 1200
cagcctgcta tacctactag ggtccaatgc ccgccagcct agctccagtg cttctagtag 1260
gagggctgaa agggagcaac ttttctctta atcctggaaa ttcgacacaa ttagatttga 1320
actgctggaa atacaacaca tgttaaatct taagtacaag ggggaaaaaa taaatcagtt 1380
attgaaacat aaaaatgaat accaaggacc tgatcaaatt tcacacagca gtttccttgc 1440
aacactttca gtcctccatg ctccagaata cccaccaag aaaataatag gctttaaaac 1500
aatatcggct cctcatccaa agaacaactg ctgattgaaa cacctcatta gctgagtgt 1560
gagaagtgca tcttatgaaa cagtcttagc agtggttagt tgggaaggag atagctgcaa 1620
ccaaaaaaga aataaatatt ctataaacct tc 1652

<210> 2

<211> 5215

<212> DNA

<213> human

<400> 2

aagcaacctt aaaatgactg caccctccca gatttctttt acattaacta aaaagtctta 60
tcacacaatc tcataaaatt tatgtaattt catttaattt tagccacaaa tcatcaaaat 120
gacgaggatt ttgacagctt tcaaagtggg gaggacactg aagactgggt ttggctttac 180
caatgtgact gcacacacaa aatggaaatt ttcaagacct ggcatcaggc tcctttctgt 240

caaggcacag acagcacaca ttgtcctgga agatggaact aagatgaaag gttactcctt 300
tggccatcca tcctctgttg ctggtgaagt ggTTTTtaat actggcctgg gagggtagcc 360
agaagctatt actgaccctg cctacaaagg acagattctc acaatggcca accctattat 420
tgggaatggt ggagctcctg atactacttc tctggatgaa ctgggactta gcaaattttt 480
ggagtctaata ggaatcaagg tttcagggtt gctggtgctg gattatagta aagactacaa 540
ccactggctg gctaccaaga gtttagggca atggctacag gaagaaaagg ttcttgcaat 600
ttatggagtg gacacaagaa tgctgactaa aataattcgg gataagggtta ccatgcttgg 660
gaagattgaa tttgaaggctc agcctgtgga ttttgtggat ccaaataaac agaatttgat 720
tgctgagggt tcaaccaagg atgtcaaagt gtacggcaaa ggaaacccca caaaagtggg 780
agctgtagac tgtgggatta aaaacaatgt aatccgctg ctagtaaagc gaggagctga 840
agtgcactta gttccctgga accatgattt caccaagatg gagtatgatg ggattttgat 900
cgcgaggaga ccggggaacc cagctcttgc agaaccacta attcagaatg ttcagaagat 960
tttggagagt gatcgcaagg agccattgtt tggaatcagt acaggaaact taataacagg 1020
attggctgct ggtgccaaaa cctacaagat gtccatggcc aacagagggc agaatcagcc 1080
tgttttgaat atcacaaaca aacaggcttt cattactgct cagaatcatt gctatgcctt 1140
ggacaacacc ctccctgctg gctggaaacc actttttgtg aatgtcaacg atcaaaaaa 1200
tgaggggatt atgcatgaga gcaaaccctt ctctgctgtg cagttccacc cagaggtcac 1260
cccggggcca atagacactg agtacctgtt tgattccttt ttctcactga taaagaaagg 1320
aaaagctacc accattacat cagtcttacc gaagccagca ctagttgcat ctcggttga 1380
ggtttccaaa gtccttattc taggatcagg aggtctgtcc attggtcagg ctggagaatt 1440
tgattactca ggatctcaag ctgtaaaagc catgaaggaa gaaaatgtca aaactgttct 1500
gatgaacca aacattgcat cagtccagac caatgagggt ggcttaaagc aagcggatac 1560
tgtctacttt ctcccatca cccctcagtt tgtcacagag gtcacaaagg cagaacagcc 1620
agatgggtta attctgggca tgggtggcca gacagctctg aactgtggag tagaactatt 1680
caagagaggt gtgctcaagg aatatggtgt gaaagtcctg ggaacttcag ttgagtccat 1740
tatggctacg gaagacaggc agctgttttc agataaacta aatgagatca atgaaaagat 1800
tgtccaagt tttgcagtgg aatcgattga ggatgcactg aaggcagcag acaccattgg 1860
ctaccagtg atgatccgtt ccgcctatgc actgggtggg ttaggctcag gcatctgtcc 1920
caacagagag actttgatgg acctcagcac aaaggccttt gctatgacca accaaattct 1980

ggtggagaag tcagtgcacag gttggaaaga aatagaatat gaagtgggtc gagatgctga 2040
tgacaattgt gtcactgtct gtaacatgga aaatgttgat gccatgggtg ttcacacagg 2100
tgactcagtt gttgtggctc ctgcccagac actctccaat gccgagtttc agatgttgag 2160
acgtacttca atcaatgttg ttcgccactt gggcattgtg ggtgaatgca acattcagtt 2220
tgcccttcat cctacctcaa tggaatactg catcattgaa gtgaatgcca agatgtcccc 2280
gaactctgct ctggcctcca aaacgactgg ctacccattg gcattcattg ctgcaaagat 2340
tgccctagga atcccacttc caggaattaa gaacgtcgta tccgggaaga catcagcctg 2400
ttttgaacct agcctggatt acatgggtcac caagattccc cgctgggatac ttgaccgttt 2460
tcatggaaca tctagccgaa ttggtagctc tatgaaaagt gtaggagagg tcatggctat 2520
tggtcgtacc tttgaggaga gtttccagaa agctttacgg atgtgccacc catctataga 2580
gggtttcact ccccgctctc caatgaacaa agaattggcca tcgaatttag atcttagaaa 2640
agagttgtct gaaccaagca gcacgcgtat ctatgccatt gccaaaggcca ttgatgacaa 2700
catgtccctt gatgagattg agaagctcac atacattgac aagtggtttt tgtataagat 2760
gcgtgatatt ttaaacatgg aaaagacact gaaaggcctc aacagtgagt ccatgacaga 2820
agaaaccctg aaaagggcaa aggagattgg gttctcagat aagcagattt caaaatgcct 2880
tggtgctcact gaggcccaga caaggagct gaggttaaag aaaaacatcc acccttgggt 2940
taaacagatt gatacactgg ctgcagaata cccatcagta acaaactatc tctatgttac 3000
ctacaatggc caggagcatg atgtcaattt tgatgaccat ggaatgatgg tgctaggctg 3060
tggtccatat cacattggca gcagtgtgga atttgattgg tgtgctgtct ctagtatccg 3120
cacactgcgt caacttggca agaagacggg ggtgggtgaat tgcaatcctg agactgtgag 3180
cacagacttt gatgagtgtg acaaactgta ctttgaagag ttgtccttgg agagaatcct 3240
agacatctac catcaggagg catgtggtgg ctgcatcata tcagttggag gccagattcc 3300
aaacaacctg gcagttcctc tatacaagaa tgggtgtcaag atcatgggca caagccccct 3360
gcagatcgac agggctgagg atcgctccat cttctcagct gtcttggatg agctgaaggt 3420
ggctcaggca ccttggaaag ctgttaatac tttgaatgaa gcactggaat ttgcaaagtc 3480
tgtggactac ccctgcttgt tgaggccttc ctatgttttg agtgggtctg ctatgaatgt 3540
ggtattctct gaggatgaga tgaaaaaatt cctagaagag gcgactagag tttctcaggc 3600
cacgccagtg gtgctgacaa aatttgttga aggggcccga gaagtagaaa tggacgctgt 3660
tggcaaagat ggaagggtta tctctcatgc catctctgaa catgttgaag atgcaggtgt 3720

ccactcggag aatgccactc tgatgctgcc cacacaaacc atcagccaag gggccattga 3780
aaaggtgaag gatgctaccc ggaagattgc aaaggctttt gccatctctg gtccattcaa 3840
cgtccaattt cttgtcaaag gaaatgatgt cttggtgaat gagtgtaact tgagagcttc 3900
tcgatccttc ccctctgttt ccaagactct tggggttgac ttcattgatg tggccaccaa 3960
ggtgttgatt ggagagaatg ttgatgagaa acatcttcca acattggacc atcccataat 4020
tcctgttgac tatgttgcaa ttaaggctcc catgttttcc tggccccggt tgagggatgc 4080
tgaccccatc ctgagatgtg agatggcttc cactggagag gtggcttgct ttggtgaagg 4140
tattcataca gccttcctaa aggcaatgct ttccacagga tttaagatac ccagaaaagg 4200
catcctgata ggcatccagc aatcattccg gccaagattc cttggtgtgg ctgaacaatt 4260
acacaatgaa ggtttcaagc tgtttgccac ggaagccaca tcagactggc tcaacgccaa 4320
caatgtccct gccaaccagc tggcatggcc gtctcaagaa ggacagaatc ccagcctctc 4380
ttccatcaga aaattgatta gagatggcag cattgaccta gtgattaacc ttcccaacaa 4440
caacactaaa tttgtccatg ataattatgt gattcggagg acagctgttg atagtggaat 4500
ccctctcctc actaattttc aggtgaccaa actttttgct gaagctgtgc agaaatctcg 4560
caaggtggac tccaagagtc ttttccacta caggcagtag agtgctggaa aagcagcata 4620
gagatgcaga caccacagcc ccattattaa atcaacctga gccacatgtt atataaagga 4680
actgattcac aactttctca gagatgaata ttgataacta aacttcattt cagtttactt 4740
tgttatgcct taatattctg tgtcttttgc aattaaattg tcagtcactt cttcaaaacc 4800
ttacagtcct tcctaagggtt actcttcatg agattcatcc atttactaat actgtatttt 4860
tggtggacta ggcttgccct tgtgcttatg tgtagctttt tactttttat ggtgtgatta 4920
atggtgatca aggtaggaaa agttgtgttc tattttcttg aactccttct atactttaag 4980
atactctatt tttaaaacac tatctgcaaa ctgaggacac tttacagggc cagaatactc 5040
taaaaacttg ataaaattaa atatagattt aatttatgaa ccttccatca tgtgtttgtg 5100
tattgcttct ttttggatcc tcattctcac ccatttggct aatccaggaa tattgttatc 5160
ccttcccatc atattgaagt tgagaaatgt gacagagcat ttagagtatg aattc 5215

<210> 3

<211> 2732

<212> DNA

<213> human

<400> 3

aacaacatcc tgggattggg acccactttc tgggcactgc tggccagtcc caaaatggaa 60
cataaggaag tggttcttct acttctttta ttcttgaaat caggtcaagg agagcctctg 120
gatgactatg tgaataccca gggggcttca ctgttcagtg tctaagaa gcagctggga 180
gcaggaagta tagaagaatg tgcagcaaaa tgtgaggagg acgaagaatt cacctgcagg 240
gcattccaat atcacagtaa agagcaacaa tgtgtgataa tggctgaaaa caggaagtcc 300
tcataatca ttaggatgag agatgtagtt ttatttgaaa agaaagtgt tctctcagag 360
tgcaagactg ggaatggaaa gaactacaga gggacgatgt ccaaaacaaa aaatggcatc 420
acctgtcaaa aatggagttc cacttctccc cacagaccta gattctcacc tgctacacac 480
ccctcagagg gactggagga gaactactgc aggaatccag acaacgatcc gcagggggccc 540
tggtgctata ctactgatcc agaaaagaga tatgactact gcgacattct tgagtgtgaa 600
gaggaatgta tgcattgcag tggagaaaac tatgacggca aaatttccaa gaccatgtct 660
ggactggaat gccaggcctg ggactctcag agcccacacg ctcattggata cattccttcc 720
aaatttccaa acaagaacct gaagaagaat tactgtcgta accccgatag ggagctgcgg 780
ccttggtgtt tcaccaccga cccaacaag cgctgggaac tttgcgacat ccccgcgtgc 840
acaacacctc caccatcttc tggteccacc taccagtgtc tgaagggaac aggtgaaaac 900
tategcggga atgtggctgt taccgtttcc gggcacacct gtcagcactg gagtgcacag 960
accctcaca cacataacag gacaccagaa aacttcccct gcaaaaattt ggatgaaaac 1020
tactgccgca atcctgacgg aaaaagggcc ccatgggtgcc atacaacaa cagccaagtg 1080
cgggtgggagt actgtaagat accgtcctgt gactcctccc cagtatccac ggaacaattg 1140
gtccccacag caccacctga gtaaccct gtgggtccagg actgctacca tggatgatga 1200
cagagctacc gaggcacatc ctccaccacc accacaggaa agaagtgtca gtcttggtca 1260
tctatgacac cacaccggca ccagaagacc ccagaaaact acccaaatgc tggcctgaca 1320
atgaactact gcaggaatcc agatgccgat aaaggcccct ggtgttttac cacagacccc 1380
agcgtcaggt gggagtactg caacctgaaa aaatgctcag gaacagaagc gagtgttgta 1440
gcacctccgc ctgttgctct gcttcagat gtagagactc cttccgaaga agactgtatg 1500

tttgggaatg ggaaaggata ccgaggcaag agggcgacca ctgttactgg gacgccatgc 1560
caggactggg ctgcccagga gcccacataga cacagcattt tcactccaga gacaaatcca 1620
cgggcggggtc tggaaaaaaa ttactgccgt aaccctgatg gtgatgtagg tggtccttgg 1680
tgctacacga caaatccaag aaaactttac gactactgtg atgtccctca gtgtgcggcc 1740
ccttcatttg attgtgggaa gcctcaagtg gagccgaaga aatgtcctgg aagggttgtg 1800
gggggggtgtg tggcccaccc acattcctgg ccctggcaag tcagtcttag aacaaggttt 1860
ggaatgcact tctgtggagg caccttgata tccccagagt ggggtgttgac tgctgcccac 1920
tgcttgagga agtccccaag gccttcatcc tacaaggtca tcctgggtgc acaccaagaa 1980
gtgaatctcg aaccgcatgt tcaggaaata gaagtgtcta ggctgttctt ggagcccaca 2040
cgaaaagata ttgccttgct aaagctaagc agtcctgccg tcactactga caaagtaatc 2100
ccagcttgtc tgccatcccc aaattatgtg gtcgctgacc ggaccgaatg tttcatcact 2160
ggctggggag aaaccaagg tacttttggg gctggccttc tcaaggaagc ccagctccct 2220
gtgattgaga ataaagtgtg caatcgctat gagtttctga atggaagagt ccaatccacc 2280
gaactctgtg ctgggcattt ggccggaggc actgacagtt gccagggtga cagtggaggt 2340
cctctggttt gcttcgagaa ggacaaatac attttacaag gagtcacttc ttgggggtctt 2400
ggctgtgcac gcccacataa gcctgggtgtc tatgttcgtg tttcaaggtt tgttacttgg 2460
attgaggag tgatgagaaa taattaattg gacgggagac agagtgacgc actgactcac 2520
ctagaggctg ggacgtgggt agggatttag catgctggaa ataactggca gtaatcaaac 2580
gaagacactg tccccagcta ccagctacgc caaacctcgg cattttttgt gttattttct 2640
gactgctgga ttctgtagta aggtgacata gctatgacat ttgttaaaaa taaactctgt 2700
acttaacttt gatttgagta aattttgggt tt 2732

<210> 4

<211> 288

<212> DNA

<213> human

<400> 4

cttatctaaa agagganctn cagggtctcaa cnttgccagt cacaccnaat taatgtcctt 60
cacaaaaata ancagcatat gttccctttc aatttgagtt cagtgagctc acagcaaaat 120
ttacctttta attttnttca gcaaatacaa gacgaatata caaaggatga gattagataa 180
agatttcagt ttcngtatg ccaccngtgc cgccaatttt ccaaaaaagc ctggctcctc 240
ttttcctggt cctccatcca agcccccaaa gatctctaac cagaatta 288

<210> 5

<211> 2251

<212> DNA

<213> human

<400> 5

aggatgtctt ctggcaattt catataagta ttttttcaaa aatgtctctt ctgtcaaccc 60
cacgcctttg gcacaatgaa gtgggtaacc tttatttccc ttctttttct ctttagctcg 120
gcttattcca ggggtgtgtt tcgtcgagat gcacacaaga gtgaggttgc tcatcggttt 180
aaagatttgg gagaagaaaa tttcaaagcc ttgggtgtga ttgcctttgc tcagtatctt 240
cagcagtgtc catttgaaga tcatgtaaaa ttagtgaatg aagtaactga atttgcaaaa 300
acatgtgtag ctgatgagtc agctgaaaat tgtgacaaat cacttcatac cttttttgga 360
gacaaattat gcacagttgc aactcttcgt gaaacctatg gtgaaatggc tgactgctgt 420
gcaaaacaag aacctgagag aaatgaatgc ttcttgcaac acaaagatga caacccaaac 480
ctccccgat tggtagagacc agaggttgat gtgatgtgca ctgcttttca tgacaatgaa 540
gagacatttt tgaaaaaata cttatatgaa attgccagaa gacatcctta cttttatgcc 600
ccggaactcc ttttctttgc taaaaggtat aaagctgctt ttacagaatg ttgccaagct 660
gctgataaag ctgcctgcct gttgccaag ctcgatgaac ttcgggatga agggaaggct 720
tcgtctgcca aacagagact caaatgtgcc agtctccaaa aatttggaga aagagctttc 780
aaagcatggg cagtggctcg cctgagccag agatttccca aagctgagtt tgcagaagtt 840
tccaagttag tgacagatct taccaaagtc cacacggaat gctgcatgg agatctgctt 900
gaatgtgctg atgacagggc ggaccttgcc aagtatatct gtgaaaatca ggattcgatc 960

tccagtaaac tgaaggaatg ctgtgaaaaa cctctgttgg aaaaatccca ctgcattgcc 1020
gaagtggaaa atgatgagat gcctgctgac ttgccttcat tagctgctga ttttgttgaa 1080
agtaaggatg tttgcaaaaa ctatgctgag gcaaaggatg tcttcctggg catgtttttg 1140
tatgaatatg caagaaggca tcctgattac tctgtcgtgc tgctgctgag acttgccaag 1200
acatatgaaa ccactctaga gaagtgtgt gccgctgcag atcctcatga atgctatgcc 1260
aaagtgttcg atgaatttaa acctcttgtg gaagagcctc agaatttaac caaacaaaac 1320
tgtgagcttt ttaagcagct tggagagtac aaattccaga atgcgctatt agttcgttac 1380
accaagaaag taccccaagt gtcaactcca actctttag aggtctcaag aaacctagga 1440
aaagtgggca gcaaagtgtg taaacatcct gaagcaaaaa gaatgccctg tgcagaagac 1500
tatctatccg tggctctgaa ccagttatgt gtgttgcatt agaaaacgcc agtaagtgc 1560
agagtcacaa aatgctgcac agagtccttg gtgaacaggc gaccatgctt ttcagctctg 1620
gaagtcgatg aaacatacgt tcccaaagag tttaatgctg aaacattcac cttccatgca 1680
gatatatgca cactttctga gaaggagaga caaatcaaga aacaaactgc acttgttgag 1740
cttgtgaaac acaagcccaa ggcaacaaaa gagcaactga aagctgttat ggatgatttc 1800
gcagcttttg tagagaagtg ctgcaaggct gacgataagg agacctgctt tgccgaggag 1860
ggtaaaaaac ttgttgctgc aagtcaagct gccttaggct tataacatct acatttaaaa 1920
gcattctcagc ctacatgag aataagagaa agaaaatgaa gatcaaaagc ttattcatct 1980
gttttctttt tcgttggtgt aaagccaaca ccctgtctaa aaaacataaa tttctttaat 2040
cattttgcct cttttctctg tgcttcaatt aataaaaaat ggaaagaatc taatagagt 2100
gtacagcact gttatttttc aaagatgtgt tgctatcctg aaaattctgt aggttctgtg 2160
gaagttccag tggtctctct tattccactt cggtagagga tttctagttt ctgtgggcta 2220
attaaataaa tcactaatac tcttctaagt t 2251

<210> 6

<211> 14776

<212> DNA

<213> human

<400> 6

ccccattga aaaattgtct ttctgatctt tataaacaat tatttaatat ccagtaaaat 60
cttctctata ttgctttact agtgagttct attaaaattt tgaagcacag aaaattcccc 120
tacagtataa agtatcccca gtcacagaga agacaggggt ttgcaatga tttctagaat 180
agtgcaattt ttatgcaaga acctaataa acacaaaaat tatagcccga ttttatttgt 240
gggtatagat gcaaaattac taaaaatact attaacaagt tgaatcctta ggggtgttaa 300
agagtatcac tccatgaacg agttggttgt gatgtggaac tatgaggtac ttttatgata 360
caatataaaa atttatggta attttatggg acattgtgag acagtgtttt cttctagcat 420
cactactagca ggtctatgga gaaaaatcac aggattgtct caatcaaaaa aagatttcat 480
taaccaact ctcacccctg ataaacactg ttagttatct agagaaagaa gaaaattgtc 540
ccaatacagt cacctctttg ccacaccag ccaacagcag acgtgatgga agcctgaaga 600
acaccctgcc acgggcacag gcagaggcac aggcaccctg tcgtcctgat tatttcacct 660
tgtcacgggc agaggcacag gcaccctgtc gtcctgatta tttcaccttg tcacaggcac 720
aggcaccctg tcgtcctgat tatttcacct tgtcacaggc acaggcactc tgctcctctg 780
attatttcac cttgtcacgg gcagaggcac aggcactctg tcacccctgat tatttcacct 840
tgtcctagag tgtcctgcca atgggacaga tgcaaaacaa ataaaagccc cggcttctga 900
aaagaagcac acagaaatgt cattattttc aaacgagggtg ttcccgtata taaaatttga 960
tgttgggtgg gcatctaaca gtattatggc cagaggactc agaccacagc tgcacccctg 1020
tgaggcacag actctccagg gcacgcgggt cccgctggga tgtgcacact caggtgagct 1080
gcacagacaa ggtgtcctca gcccagggga gccagaggcc tgctctgcct ctccaccctg 1140
atgcttctctg ttctcacccc accaaagcca aggccttcaat ttcagtctgt ggggagctga 1200
ctctgctgct ctcaagcact agaagaagga accagtaatc gaggaaactt gtggacccca 1260
atgggtgtctg tcccggccag gcctggctgg gccacacag gacaacaggg ttcaggggtc 1320
tggacagctg tttctgcca gggaattgtc cctgccacct cacactggcc actggaaagg 1380
aaagagagga ggaggcggca ggctaacca cccgtgagcc agtcgagtct acattgtcag 1440
ttctcacctc gaggggtgcc aaaaaccaga gggaagcaaa ggcccctgaa gcctctgcca 1500
gaggccaacg ccccttcttg gttcaggaga ggtgcagtgt taggtgcagc acaaccaatg 1560
acttgcttat gtggctaata aattgtcaag agaaaaactg ggtagaatg caatatatag 1620

tatgtagtct catttttgta taaatacaag tatagaatgg cataactcaa aatccacaag 1680
tgatttggct ggattgtaaa tgacttttat tttcttcatt tctcatcata ttttctatta 1740
tacataaaga ttcattgtta atataaaagt acaaaaattgc aacctatgaa ttaagaactt 1800
ctatatattg ccagtttagaa gacagaatga aaaacattct cttcattcta accacacaca 1860
caaaaaactc cacaaaatac ctatggacta ccttcataga aggtggaaga gggctctgtat 1920
gaagaaaatg cttaatacat gaaagaagaa gctagtcaat gtggaggtct attgtgcgcc 1980
gggatcaaca aagacaagat atgtttaaaa tgggtgttcta aatttaccct aatgtaaaac 2040
aaatccaata aaactctaatt gtgattttttt aagaatttaa atttgaata attccaaaga 2100
acaatttttc ttaatttcta cagccagaat atataccttt aaaaaaatg aaaacagaga 2160
ttaactttct cagaattggg tgactcactc tttcctttta tttttcttcc atggaatttt 2220
ccagttaact tgagaaagtg gaatcgaatt ccgatgttga attttccttc tggccccatt 2280
catgtggcag gtggtgattc aggtactact gggggctgct cagacaaacc tcctcatcag 2340
acatcaagag gctgttgac caggagggcc ggtaccgtgt ctagaggtgg tcggcatggg 2400
gttggagtgt tattacataa accctactcc aaacaaatgc atggggatgt ggctggagtt 2460
ccccgttgc taaccagtgc caaagggcag gtcggtacct caccacacgt tcttaactat 2520
gggttggcaa catgttcctg gatgtgtttg ctggcacagt gacaggtgct agcaaccagg 2580
gtgttgacac agtccaactc catcctcacc aggtcactgg ctggaacccc tgggggccac 2640
cattgcggga atcagccttt gaaacgatgg ccaacagcag ctaataataa accagtaatt 2700
tgggatagac gagtagcaag agggcattgg ttggtgggtc accctccttc tcagaacaca 2760
ttataaaaac cttcctttcc acaggattgt cctcccgggc tggcagcagg gccccagcgg 2820
caccatgtct gccctcggag tcaccgtggc cctgctggtg tgggcggcct tcctcctgct 2880
ggtgtccatg tggaggcagg tgcacagcag ctggaatctg cccccaggcc ctttcccgt 2940
tcccatcatc gggaacctct tccagttgga attgaagaat attcccaagt ctttaccgcg 3000
ggtaagagaa atagtgttga ttttagggag aataactcag caattggatc tggatatgtg 3060
gtattcaact catttgcaga caaattgtgg ttgttcaata ccagcctgtt gtgaattacc 3120
tgaattgata gcaccttga gcgacactca aaatgtgtcg cctgtggtgc agctggagcc 3180
cggagcctgc gtgccaggcc ccggaggccc ccgccgtgcc ttgtcctggg gctgatgatg 3240
gggaggccgg cgaggccggg ctgctgcgac gccaggataa ccgggctggc ggccagatgc 3300
gcactcgctg ggcgtccgcc tgtgtttgcc aaagcacgag ttgaaacgtg aagtgttggg 3360

ccagcccgtg tggcaccaat acctgccgcc tacgactgtt gtgaacactg aatgggccaa 3420
caaacctaaa cgtaaataa actgataacg ccgtcagcac ggagcaggcg ctgggtgttt 3480
gcgctcttgc gcgtgcgctg ctgtggggcg caggctgacg gcgggcgggg gtcgcctgct 3540
ccagctcggg ctcccgcgcc agaaccgggt ccagaacctt gattccggaa gcgggcaacg 3600
gggtggttgg tgggcgcgcc tgagggaagg gacgtgagga gccggagtcc gcggagtgc 3660
cgcgagttg tccgcggagt ccaggcgggt ggggagcaga gcagctggaa ccccccgagc 3720
gccctgcaga cgcagcagcc tcttgagggg agggctctcc ccacctcggg ctggacaaag 3780
acagcttttc cccacgtccc tctgggttct ctagagcaac agcaataccc gcccggcagg 3840
tgtggcttag agccccgcac ctccctcgccg cgcgcgggcc tgacttctag ccacgggtct 3900
ccgcagttgg cccagcgctt cgggccgggtg ttcacgtgt acgtgggctc gcagcgcag 3960
gtggtgatgc acggctacaa ggcggtgaag gaagcgctgc tggactacaa ggacgagttc 4020
tcgggcagag gcgacctccc cgcgttccat gcgcacaggg acaggggtga gtccgcgtcc 4080
ctggcacgga gcgggggggtg cataacacgc cccgggacag ttacgggcgc tagccacgtc 4140
ggcgatggcc aaataataaa ctaacagtaa tattatagta atagcatccg aaggatgaga 4200
tcaggattag gcgatggccc ccgcgcgttg cctgccgagc gaggcgcact gagtgcacca 4260
ggaatccggc ctctcggcga ctgtgcggga gagttttatg gggatgggcg gggctgcttc 4320
tgagcaggag tcgccgcccc cccccacc gttccgcctc tgggccgcag gtcctcccg 4380
ggagcgcttt cccctcctgt tcaaccgccg gggtacaggt ggcttcgtcc accgaggtcc 4440
cctcaccac gctgaggcgt cggaagctgc ggacactgct cgcttcaggg ctttgctcag 4500
ctgcagctgg tgacctccag agaggagtc tctgatgtcc cgctggggtg gatgtcctga 4560
gaccgggaag ggggaagaga cccactgaaa tcctatctcc cagcctcacc tctgctgtct 4620
cctccacgt tctgtctcc agagccccga gttcagcata agcagaaagc ggcctgttcc 4680
ctctctaggg agaggagggt tgcggtctgg aggtctggct cgtctttatc tgcgcattct 4740
cccagcctcc tggcttcaga cctcagcgag gcggcggtg cggccggctc tcctcttct 4800
gcctgcagac ctggcctgct gcttctttct ccttctccc tccctgcctg ccctgcggtt 4860
tcaaagtaga ttagaaataa cagtgtccca catggaagcc tctacttctt cctgggtcaa 4920
ctttgatgac gaggctccag aaaacctttg caatgctgtg tggaattttt aaatcggtga 4980
gctcgtgctc ttgccctatt tatttgtcca gcgtacattt ctgaacattg tgaacgtcga 5040
atgggccaac aaatctaaaa attaaatgag ctgataaaga acgccgtcag cacagagcag 5100

acgctgggtg ttcgcgctct tgagcgtgcg ctctgcgggg cgcgggctgg tggcgggcgg 5160
gggtcgccgg ctccagctca ggttcccgcg ccaggaccgc gtccagaacc ttgtctccgg 5220
aagcgggcaa cggggtgggt gtatcacaat tagtggcatt tggttttcct tcttctgcat 5280
tgtgggtttt acttctctgg ggttgccaaa aacaaaatta accatctcag tccttgtcgt 5340
taacgcagga gaagcattac tggaggaggc tctggggttc tgtggttgag gagctcagtt 5400
ctggttccgg ggagccctta tctgccacc acgggtccaa ggcacagtcg gaggcagcag 5460
ggaggggagc ggaattcaca tcaacacaga tggggctcaa ggggactttg ctgcctctgc 5520
ctggagggtc taaagtttca tttcatatg accgcaggg cgagactgg cggaataa 5580
gcagagccct gggcatgggc tgcacctggc cttaaggac aatgatggaa atattcctta 5640
ttagcacaat actgagcaca ggctgtgtga taatgtgtca agggaactgc agacatcctt 5700
tcagaaaaag ttcataaaac ggagaaagt tggttcccaa cctagatttt taacctgttg 5760
aactctgtct aaatgggtca tctcgggatg tcctccactc aacatgacca cagtctgccc 5820
ctctgtccca cctgtctcct cagtccttcc tccccacctt tcaggatgaa atgaaacct 5880
cagtcagct gcaccctgc cccaccacc tcatctcatg tgcctcccg ccctctcag 5940
gccggacagc cttgcttctg gaacacacga gcacagctt accaggcact ttctgagcac 6000
cctgcaggcg cctcccagga gtggtcagtg gtcaatcagc taatgaagct gcataggaca 6060
tgaccttgt ttaccgcaga atgcccagag ctggcaggat gtcttatatg caggaagtac 6120
ccaaaatgta tttattgagg aagtgatgat ggataagagg aagacggaga gcgagggaga 6180
gaggggctag gggccctgcg gtgtaaagg ggtgtggctg ggagtgtgca ggggaacagg 6240
gatcatttca aggttcctat ctgggagaaa ataaaaagg ttacagttag ttgagataag 6300
cgtgggaata tgcgaacatt tttaaagaat aaaaagttaa gctttaaatt tgttgattcc 6360
aaatgtgttc atactctcgg gaggatccat caagcaactc ttgggaggag agacagggca 6420
gggcaggcct tgacagctca gaaggcgca gtagggacag ttcttggttt tcccagctct 6480
gatgctttgc acagtcgctt gtgtgacctg caagatttta gtgaagaaac ttgctgtgga 6540
gtcgaaaagc tgcaagtga ggtgtgtgtg gtgtgagggt taaaaatctg tgagaacaga 6600
atgaatggct tttcaagaat gttgtcgata gataggaaag aggtgggagg tgttcttga 6660
gtggccatat gtggttttat gtagcatggg gaagactcag cagaaaggaa aaagaaagaa 6720
ggtaaattga cagcatgaag tagagcacc aggagaggct acatgtgatg aagaaaccac 6780
agtgcagact gtgaggacc cagaaaggct cctcccaaaa acctgaccag tggccggtgc 6840

tggcagctcc caggctggga caccctctgt ctctctgtcc ctctgcccc tctgtcactt 6900
ctttatacac ctgtaaatac tgccctgtc tccaaggccc tctgtagccc atttctcccc 6960
aaaatgggta tttagaataa ctttctgtg gccctctgc cttaggaatc atttttaata 7020
atggacctac ctggaaggac atccggcggt tttccctgac caccctccgg aactatggga 7080
tggggaaaca gggcaatgag agccggatcc agaggagggc ccacttctg ctggaagcac 7140
tcaggaagac ccaaggtgcg tatctgtgc ctagcagggc ccagtcctct tgcagaccag 7200
cgggtgtgggg agccctggct gggactccta gactgcatct gaaccacagg gacctacgga 7260
caaggagagg gtctcgtgag tccccagata ctgcatttta caactctagg ttccagctac 7320
acagttcagg gagcaagggt ggccattaaa cacgtgactt gtatcctaaa tactgttgaa 7380
aagcaaagga aactcaaaca ggttcagaca ttcactatct ttcgtaaact ggcagttttc 7440
agggcacctt ctcacaggcc ttgggtgaacc tcagtgggtg actgagcagg tggaggagtc 7500
tcctcacccc catcttctgg ttgccctgac tgcctgtttt gtaggccagc ctttcgaccc 7560
caccttctc atcggtgcg cgccctgcaa cgtcatagcc gacatcctct tccgaagca 7620
ttttgactac aatgatgaga agtttctaag gctgatgtat ttgtttaatg agaacttcca 7680
cctactcagc actccctggc tccaggtgaa gccactttcc tctttcatca gtcatcaact 7740
gtagagttta cgttagaaaa agaaggaaaa tttgggttat atgtgataga caggactgca 7800
aaagccaaac aacatagctt cgaggggtgt ttgattagac agcccaaata ttcctccag 7860
agacatctct ggggccccac gcacccctt tcctaacgtc aggatgtgta tcgacctgtg 7920
tgtgcacatt tgccatgcag agtttgcact gctgaggaga atggtgcca agaaggacac 7980
tgttgacca aatatcca aataaacaat gattacagcc acaaattcag gtttgagaa 8040
agttgttggc ccaacacaca caattatgtt gcatccagaa aaaagtagta aatatTTTT 8100
ttccctctct agctttaca taattttccc agctttctac actacttgcc tggaagccac 8160
agaaaagtca taaaaaatgt ggctgaagta aaagagtatg tgtctgaaag ggtgaaggag 8220
caccatcaat ctctggacce caactgtccc cgggacctca ccgactgcct gctcgtggaa 8280
atggagaagg taggctcggc ctccatgat gtgggtctct cggggtgggc agagaatgca 8340
caatttcaga ttacagagt gagctgcact tgctggtgtc cagacctccc accgcagcat 8400
gctctgagtt tcatacacac actcttggct tcagcatgac cactggacgc aagtcagcct 8460
gcctggctgc caagctggcc tggggtttgg ggcacatggg cgggacgctt agctctctcc 8520
aggccctgct gctcaaccct ttctagtctg cagactttga gaattgcatt ttgtctgagg 8580

agaagccctc agccttcctt gtgggcatgc actccccaac tgtgcgcacg tgcaggactt 8640
ccaggcctcc ccagcttcat ccacctgcag gtgctcagga tcctgatccc ctgccccctt 8700
cccaccttgg tgaacttct tgtatccttg tcttgctctt tcctatggct tgtggctcaa 8760
gaacaaatgt ggagcccaca ctgatttccc aggactgtct gagcatcttc tccaccagtt 8820
tggccccctg tggcagcaga cactagccct gtagcaggag gggtttagcag gagccgttta 8880
gctcctgcct gagctatgac caaggtcagg gggatctcac ctctcccagg atggccctca 8940
tgctgtggag ggagacagag ccctggcctg ccctcagcag atttctggga gcctcagttt 9000
ccctggctgt gagtggagat gactctgtct gtcacagctc caagtcacag ttccactggg 9060
agagcctctt ggacactgtc tcctgtgtcc ctgtggagct gggaggtggc tggttctgtg 9120
ctgaaaggag acaagcagcc ctttctctcc ggtctgtctc cggtatcaca ggaaaagcac 9180
agtgcagagc gcttgtacac aatggacggg atcacctga ctgtggccga cctgttcttt 9240
gcggggacag agaccaccag cacaactctg agatatgggc tcctgattct catgaaatac 9300
cctgagatcg aaggtaggca agtgactgaa gggacaccgt gcgtgcggct gcctctccct 9360
ggatggccag ccttgcacat tttaggctgc agctttctgt ctgaagctgc ttgttaacct 9420
tcatggtgat gtggtgagat ggctggatgc actgctgtga ggggaggtgt tatggtctgt 9480
gctgaacact ggtactcttg cacactgggt ggtccatacc ccactaagac acccctggtt 9540
gcagaaaaga acatcccaac accagagtgg agagaggtgg cagggtctgc attctgctcc 9600
ataaataacc tctttatgac agagaagata atgtcccagt tcccccaag taagacctgg 9660
tcttctagga agagcaggtg gggaggttgg agctggaggg gagggctctt gctggggcgt 9720
cttctcaaaa tgcggacgtg aggagggaag tccaggaaga agcagctaca gctccccctg 9780
gacccttgct gttccttcca cagggtctct cccagcggca cctggggcag ctgggactct 9840
gtgcctggag gaggtgtgaa aggtctgggt ctaggtgggc agagggtcat gccctgagaa 9900
acacccatct gggccaagta gaggtgatgt gagggcaccc catgcaaaca ggccagtcag 9960
ggttgggtcc aagtaaaggg gaggaaggg agctgcagcc tggctggaga gtgccggggg 10020
gcccagagcc cctgcctctc gctgggctgg aaacagggct gggcagcctc tgcccagggc 10080
agttcacagc ctgagtgtg tgtgccgcc tcctcctgaa gctgctgcta atggtcactt 10140
gtggtcttaa ggctcgtcag ttctgaaag caggtattat aggctatgaa gttatttccc 10200
ccaagaaagt cgacatgtga tggatccagg gtcagaccct ggcttttctt gttctttcct 10260
tcttcttctt ctttttattt atttattttt tttttgaggg gacagggtct cactctgttg 10320

cccaggctgg agtgcggtga tgcaatcatg gctcattgta gcttctacct attgggctca 10380
agcgatcctc ccacctcagc ctcccaagta actgggccac aggtgcacac caccacaccc 10440
agctgattaa aaatttaaaa aaattatitt ggctgggcac agtggctcat acctgtaatc 10500
ctggcacttt gggaggctga ggcaggcgat cacgaggctca ggagtctgag accttcctgg 10560
ccaacatgat gaaaccctgt ctctcctaaa atacaaaaaa gtagccgggt gtggtggcac 10620
gcgccatag tcacagctac tcaggaggct gaggcaggag aatcgcttca acctcagagg 10680
cacagggtgc agtgatccga gattgcaccc cactgcactc tagcctgaca acagagcaag 10740
aatcagtcta aaaaaaaaaat ttagagaca agttgttact atgttttgta ggctggcttt 10800
gaactcctgg gctcaagtca tcctcctgcc ttggcctccc aaagtgtgg ggttacaggt 10860
gtggccaccg tgcccatcc ctggcctttg ctttttcaat cacatggaaa tgtgaagggt 10920
gaaggagcca aaagtttagg gaaggaatca ttgtatggat ctgcagtgat tataagagaa 10980
ctttcgacta ctctgcacta ggggaaccat ggaatcaaaa aatgttttaa attattattt 11040
atgaggaggt tccaatatag acaaaaggaa aataaatatg attgacatgt atatatccat 11100
tgccaaattg aacgtttatt aacattttgc gatacttcca tcagagctct taaaaagaaa 11160
atgtgttaca gagccagcca aagtctacct cctcacatct cccacctct ctcaccagaa 11220
atggcttcag aattgctgtg tggctttgca cttttaacag ttgttaatta tcagcacagt 11280
attcatatta ttgctgtatg tgtttaatat ttacctggg tactgtacat aacattttgc 11340
agcttggttt tttcactcaa catatgatga tgttccatgg gaactccaaa cacggggagg 11400
ctaggcgact tgctcaaggc agctgttacc tctgtcagaa agacagaggc tttcagattc 11460
aagaagtaga ccctgcatgt ctgattctgt tctgtaaacc cccttcatac tcagaagcat 11520
gcaataaaca agcctgggggt aattatcaat gcaaagggtta ccctcccaga agaaatttcc 11580
aaaacacttt cattattctc tgctcttgac atgaagagaa ctgaataagc catcatcaac 11640
tgagataatg gatgccaaaa catccagtaa ataacctcat agagcttagc tctactaag 11700
tttttgagc attttccagt aattcaaagg acctggggaa ccttaagcac tgcttaggat 11760
gctccataaa catcttctgc gtgggtaggg gagtggatgg atggctggat gggtgggtgg 11820
atggacggac ggatggatgg atggatggat ggatggatgg ttggatggat gggtgggtgg 11880
atggatggat gggtcaatgg atgtgtggat ggatggaagg gtgggtggat gggtggatgg 11940
ctggctggtt gggtgggtgg gtggatggat gcatgggtgg atggatggag gatggatgga 12000
tggatggagg ggtgtataga tggaggggtg gatggatgtg taggtgggca gatggataaa 12060

agcgtgattg aatagatggg tggatgatgg gtggatgccc aactggccag gaaccaatcc 12120
ctgaaatttg tccattcat atcttggcag agaagctcca tgaagaaatt gacagggtga 12180
ttgggccaag ccgaatccct gccatcaagg ataggcaaga gatgccctac atggatgctg 12240
tggtgcatga gattcagcgg ttcatacccc tcgtgccctc caacctgccc catgaagcaa 12300
cccgagacac cattttcaga ggatacctca tccccaaggt taagcaatga gcctgcagca 12360
cacagcatga acaccatcct atcactaatc gccttcctgc caggagcag gatggggggc 12420
ccaagaccct tccctttggc aggggtcact gagggaagg gctggcccca ctcccaccct 12480
gtgggatact gcattctcag gagtgtcac attggcctgg tgaccagaga ggtggaggaa 12540
atctggaaaa gagcctcagc agatagtgcc tgggactgta gtgaattcta atgccaggaa 12600
caaaactatca caaccagccc tggggttaat cctgtgagaa gattagggtt ttcatttca 12660
tttagacctg acccctgact gctttctatc taatccttca ctaagcaact ccttcaactc 12720
gaaatatact atcctatata gcataatatt caaaacaaca ttcttactg ggggtttcca 12780
gatgaaagcc cacattttgt taacatgact cactgagaca gtctttgttt ctctagggc 12840
acagtcgtag tgccaactct ggactctgtt ttgtatgaca accaagaatt tcctgatcca 12900
gaaaagttaa agccagaaca ctctctgaat gaaaatggaa agttcaagta cagtactat 12960
ttcaagccat ttccacagg tgagaaagat cagaggcagt acctccctt gaggagcagc 13020
ccacactcct catctccct ccacatgtgc tctgccctcg tcccaggcac cactgacac 13080
cccaaaccct actgtgtgcc ctgtttctat tgacaacatg acccaaagt gctcttcct 13140
gttcagagaa gttacataac atcttttagc agcaatcctg ggaatgaagt gttgtagggtg 13200
gatttttttt ttcccaaaga ctagacattt tacatcttc attgctaaat ttgttttcta 13260
ttttaacaag acttagtgaa aagctctcaa agccatatta ccaattctc cctaatttta 13320
aaccagagct actaaacaaa acctaaccct tggttacct gaatcatcac aggaagcatc 13380
aaagccttc tgggatgtga ctcagtgatt ttctttgagg cacttgcct cttcccagg 13440
gcctcatctt agggattgtt gtgggaagat catacaacca actccatact ttccacacc 13500
agtgtggag cccagcttc taacagggca ctatttcct cctgtaggca tcatgatga 13560
gactggggg tgccttcttt actgggcaga catggtcttc ccaactaac accggttttt 13620
gcagttgagc tctggataat tgagattgta tgaaggctgg tcccgaatt agtcagtgtc 13680
gctggtatcc ttccactcaa gtacattttg tgcttctttt aataggcaga gagggtgag 13740
tcctgccctg tgatggcgt ttgccacag cctcctctc cccgttccc ctagtctcac 13800

tgttaacagt gtcgtgtctc tgaaactccc tcagtgtctc atcaatacca ttgttacttc 13860
taggaaaacg agtgtgtgct ggagaaggcc tggctcgcat ggagttgttt cttttgttgt 13920
gtgccatfff gcagcatfff aatttgaagc ctctcgttga cccaaaggat atcgacctca 13980
gccctataca tattgggttt ggctgtatcc caccacgtta caaactctgt gtcattcccc 14040
gctcatgagt gtgtggagga caccctgaac cccccgttt caaacaagat ttcgaattgt 14100
ttgaggtcag gattttctca actgattcct ttctttgcat atgagtattt gaaaataaat 14160
atfttccag aatataaata aatcatcaca tgattatfff aactatatgt taagtcattg 14220
aatatcttaa ttgtttaagt gatttctaca gagaggtttt tttttttttt tttttttttt 14280
tgagagtttt gctcttggtg accaggatgg agtgcagtgg catgatcttg gctcactgca 14340
acctctgtgt cctgggttca agtgattctc ctccctcagc ctcccgaata gctgggatta 14400
caggcaccca ccaccatgcc agctaattct ttgtatfff agcagagaca gggtttcacc 14460
atgttggtca ggctgggtctt gaaccctga cctcagggtga tccacctacc tcggcctccc 14520
aaagtgtgg gattacagca tgagccaccg cgccagcca gagagagggt ttaaataat 14580
atgtttactt taatattaag ttataacata atfttcatgt tattgaaaag ctcttccatc 14640
taggatcaca ccacttcagt gtcagaatca tattgagggtg gggaatttgt attagtcagg 14700
tttctctaaa gggacagaaa caataggata gatgtatata cgaaaggag tttattagga 14760
gaattgactc acatga 14776

<210> 7

<211> 882

<212> DNA

<213> human

<400> 7

cggccaggct tgcgcgtggt tcccctcccg gtgggcggat tcctgggcaa gatgaagtgg 60
gtgtgggcgc tcttgctgtt ggcggcgtgg gcagcgccg agcgcgactg ccgagtgagc 120
agcttccgag tcaaggagaa cttcgacaag gctcgttct ctgggacctg gtacgccatg 180
gccaagaagg accccgaggg cctctttctg caggacaaca tcgtcgcgga gttctcggtg 240

gacgagaccg gccagatgag cgccacagcc aagggccgag tccgtctttt gaataactgg 300
gacgtgtgcg cagacatggt gggcaccttc acagacaccg aggaccctgc caagttcaag 360
atgaagtact ggggcgtagc ctcctttctg cagaaaggaa atgatgacca ctggatcgtc 420
gacacagact acgacacgta tgccgtacag tactcctgcc gcctcctgaa cctcgatggc 480
acctgtgctg acagctactc cttcgtgttt tcccgggacc ccaacggcct gccccagaa 540
gcgcagaaga ttgtaaggca gcggcaggag gagctgtgcc tggccaggca gtacaggctg 600
atcgctccaca acggttactg cgatggcaga tcagaaagaa accttttgta gcaatatcaa 660
gaatctagtt tcacttgaga acttctgatt agctctcagt cttcagctct atttatctta 720
ggagtttaat ttgcccttct ctcccatct tccctcagtt ccataaaac cttcattaca 780
cataaagata cacgtggggg tcagtgaatc tgcttgctt tcctgaaagt ttctggggct 840
taagattcca gactctgatt cattaaacta tagtcacccg tg 882

<210> 8

<211> 2452

<212> DNA

<213> human

<400> 8

gtggacttgt tgcagttgct gtaggattct aaatccaggt gattgtttca aactgagcat 60
caacaacaaa aacatttgta tgatatctat atttcaatca tggaccaaaa tcaacatttg 120
aataaaacag cagaggcaca accttcagag aataagaaaa caagatactg caatggattg 180
aagatgttct tggcagctct gtcactcagc tttattgcta agacactagg tgcaattatt 240
atgaaaagtt ccatcattca tatagaacgg agatttgaga tatectcttc tcttgttggg 300
tttattgacg gaagctttga aattggaaat ttgcttgtga ttgtatttgt gagttacttt 360
ggatccaaac tacatagacc aaagttaatt ggaatcgggt gtttcattat gggaattgga 420
ggtgttttga ctgctttgcc acatttcttc atgggatatt acaggtattc taaagaaact 480
aatatcaatt catcagaaaa ttcaacatcg accttatcca cttgtttaat taatcaaatt 540
ttatcactca atagagcatc acctgagata gtgggaaaag gttgttttaa ggaatctggg 600

tcatacatgt ggatatatgt gttcatgggt aatatgcttc gtggaatagg ggagactccc 660
atagtaccac tggggctttc ttacattgat gatttcgcta aagaaggaca ttcttctttg 720
tatttaggta tattgaatgc aatagcaatg attgggtccaa tcattggctt taccctggga 780
tctctgtttt ctaaaatgta cgtggatatt ggatatgtag atctaagcac tatcaggata 840
actcctactg attctcgatg ggttggagct tgggtggctta atttccttgt gtctggacta 900
ttctccatta ttctttccat accattcttt ttcttgcccc aaactccaaa taaaccacaa 960
aaagaaagaa aagcttcact gtctttgcat gtgctggaaa caaatgatga aaaggatcaa 1020
acagctaatt tgaccaatca agggaaaaat attaccaaaa atgtgactgg tttttccag 1080
tcttttaaaa gcatccttac taatcccctg tatgttatgt ttgtgctttt gacgttggtta 1140
caagtaagca gctatatggg tgcttttact tatgtcttca aatacgtaga gcaacagtat 1200
ggtcagcctt catctaaggc taacatctta ttgggagtca taaccatacc tatttttgca 1260
agtggaaatgt ttttaggagg atatatcatt aaaaaattca aactgaacac cgttggaatt 1320
gccaaattct catgttttac tgctgtgatg tcattgtcct ttacctatt atatttttc 1380
atactctgtg aaaacaaatc agttgccgga ctaaccatga cctatgatgg aaataatcca 1440
gtgacatctc atagagatgt accactttct tattgcaact cagactgcaa ttgtgatgaa 1500
agtcaatggg aaccagtctg tggaaacaat ggaataactt acatctcacc ctgtctagca 1560
ggttgcaaat ctcaagtgg caataaaaag cctatagtgt ttacaactg cagttgtttg 1620
gaagtaactg gtctccagaa cagaaattac tcagcccatt tgggtgaatg cccaagagat 1680
gatgcttgta caaggaaatt ttactttttt gttgcaatac aagtcttgaa ttatttttc 1740
tctgcacttg gaggcacctc acatgtcatg ctgattgtta aaattgttca acctgaattg 1800
aaatcacttg cactgggttt ccactcaatg gttatacgag cactaggagg aattctagct 1860
ccaatatatt ttggggctct gattgataca acgtgtataa agtgggtccac caacaactgt 1920
ggcacacgtg ggtcatgtag gacatataat tccacatcat tttcaagggt ctacttgggc 1980
ttgtcttcaa tgtaagagt ctcatcactt gttttatata ttatattaat ttatgccatg 2040
aagaaaaaat atcaagagaa agatatcaat gcatcagaaa atggaagtgt catggatgaa 2100
gcaaacttag aatccttaaa taaaaataaa cattttgtcc cttctgctgg ggcagatagt 2160
gaaacacatt gttaagggga gaaaaaagc cacttctgct tctgtgtttc caaacagcat 2220
tgcattgatt cagtaagatg ttatttttga ggagttcctg gtcctttcac taagaatttc 2280
cacatctttt atggtggaag tataaataag cctatgaact tataataaaa caaactgtag 2340

gtagaaaaaa tgagagtact cattgtacat tatagctaca tatttgtggt taaggtaga 2400
ctatatgatc catacaaatt aaagtgagag acatgggttac tgtgtaataa aa 2452

【図面の簡単な説明】

【図 1】 図 1 は、肝細胞癌および非癌組織部分における遺伝子発現レベルを比較した電気泳動の図である。

GTVCはアンカープライマーを、APはアービタリープライマーを示す。
A-Dは被験患者を示す。また、A,BはB型ウイルス感染患者を、C,DはC型ウイルス感染患者を示す。

レーンNは、非癌組織を、レーンTは癌組織から調製した試料の電気泳動パターンである。また、Mは分子量マーカを示す。

矢印は、電気泳動上肝細胞癌において発現量が低下しているバンドを示す。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 慢性肝炎患者における、肝細胞癌の検出法を提供すること。

【解決手段】 被検組織における肝細胞癌低発現遺伝子の発現レベルを検出することを特徴とする、肝細胞癌の検出法および検出ツール。

【選択図】 なし

認定 - 付加情報

特許出願の番号	特願 2002-268369
受付番号	50201378059
書類名	特許願
担当官	田丸 三喜男 9079
作成日	平成 14 年 11 月 6 日

< 認定情報・付加情報 >

【特許出願人】

【識別番号】	000206956
【住所又は居所】	東京都千代田区神田司町 2 丁目 9 番地
【氏名又は名称】	大塚製薬株式会社

【特許出願人】

【識別番号】	502334847
【住所又は居所】	広島県呉市青山町 3 番 1 号
【氏名又は名称】	国立病院呉医療センター

【代理人】

申請人	
【識別番号】	100065215
【住所又は居所】	大阪府大阪市中央区道修町 1 丁目 7 番 1 号 北浜 T N K ビル 三枝国際特許事務所
【氏名又は名称】	三枝 英二

【選任した代理人】

【識別番号】	100076510
【住所又は居所】	大阪府大阪市中央区道修町 1 丁目 7 番 1 号 北浜 T N K ビル 三枝国際特許事務所
【氏名又は名称】	掛樋 悠路

【選任した代理人】

【識別番号】	100086427
【住所又は居所】	大阪府大阪市中央区道修町 1 丁目 7 番 1 号 北浜 T N K ビル 三枝国際特許事務所
【氏名又は名称】	小原 健志

【選任した代理人】

【識別番号】	100090066
【住所又は居所】	大阪府大阪市中央区道修町 1 丁目 7 番 1 号 北浜 T N K ビル 三枝国際特許事務所
【氏名又は名称】	中川 博司

次頁有

認定・付加情報 (続き)

【選任した代理人】

【識別番号】 100094101
【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区道修町1丁目7番1号 北浜
TNKビル 三枝国際特許事務所
【氏名又は名称】 館 泰光

【選任した代理人】

【識別番号】 100099988
【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区道修町1丁目7番1号 北浜
TNKビル 三枝国際特許事務所
【氏名又は名称】 斎藤 健治

【選任した代理人】

【識別番号】 100105821
【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区道修町1丁目7番1号 北浜
TNKビル 三枝国際特許事務所
【氏名又は名称】 藤井 淳

【選任した代理人】

【識別番号】 100099911
【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区道修町1丁目7番1号 北浜
TNKビル 三枝国際特許事務所
【氏名又は名称】 関 仁士

【選任した代理人】

【識別番号】 100108084
【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区道修町1丁目7番1号 北浜
TNKビル 三枝国際特許事務所
【氏名又は名称】 中野 睦子

次頁無

特願 2 0 0 2 - 2 6 8 3 6 9

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[0 0 0 2 0 6 9 5 6]

1. 変更年月日

1 9 9 0 年 8 月 2 7 日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都千代田区神田司町 2 丁目 9 番地

氏 名

大塚製薬株式会社

特願 2002-268369

出願人履歴情報

識別番号

[502334847]

1. 変更年月日

2002年 9月13日

[変更理由]

新規登録

住所

広島県呉市青山町3番1号

氏名

国立病院呉医療センター